

## PCT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner  
 US Department of Commerce  
 United States Patent and Trademark  
 Office, PCT  
 2011 South Clark Place Room  
 CP2/5C24  
 Arlington, VA 22202  
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE  
 in its capacity as elected Office

<b>Date of mailing</b> (day/month/year) 05 July 2001 (05.07.01)	
<b>International application No.</b> PCT/JP00/06963	<b>Applicant's or agent's file reference</b> 00-F-050PCT
<b>International filing date</b> (day/month/year) 05 October 2000 (05.10.00)	<b>Priority date</b> (day/month/year) 05 October 1999 (05.10.99)
<b>Applicant</b> URADE, Yoshihiro et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

13 April 2001 (13.04.01)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740 14 35	Authorized officer H. Zhou Telephone No.: (41-22) 338 83 38
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------

**Translation**

**PATENT COOPERATION TREATY**

**PCT**

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

(PCT Article 36 and Rule 70)

10 3 8 2 7

Applicant's or agent's file reference 00-F-050PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/06963	International filing date ( <i>day month year</i> ) 05 October 2000 (05.10.00)	Priority date ( <i>day month year</i> ) 05 October 1999 (05.10.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A01K 67/027, A61K 45/00, A61P 3/04, 25/20, 37/08, 43/00, C12N 15/52, G01N 33/15, 33/50		
Applicant JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>4</u> sheets, including this cover sheet.  <input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT)  These annexes consist of a total of _____ sheets.
3. This report contains indications relating to the following items:  I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 13 April 2001 (13.04.01)	Date of completion of this report 27 December 2001 (27.12.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No	Telephone No

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/06963

## I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:\*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the claims:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig. \_\_\_\_\_

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/JP 00/06963

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability: citations and explanations supporting such statement

1.	Statement			
	Novelty (N)	Claims	1-5	YES
		Claims		NO
	Inventive step (IS)	Claims		YES
		Claims	1-5	NO
	Industrial applicability (IA)	Claims	1-5	YES
		Claims		NO

### 2. Citations and explanations

#### Claims 1-5

Document 1: JP, 9-322773, A (Osaka Bioscience Institute),  
16 December 1997 (16.12.97); entire text and  
Fig. 1-11 (Family: none)

Document 2: Saibo Kagaku, Vol. 17, No. 5, pp. 707-713  
(1998)

Document 3: Isotope News, No. 552, pp. 6-11 (1997)

Document 4: Nippon Rinsho [Japanese Journal of Clinical  
Medicine], Vol. 56, No. 2, 488-492 (1998)

Document 5: Medical Immunology, Vol. 15, No. 2, pp.  
217-225 (1988)

Document 6: Tanpakushitsu Kakusan Koso [Protein, Amino  
Acid, Enzyme], Vol. 40, No. 14, pp. 2001-2007  
(1995)

Document 7: "Watson - Kumikae DNA no bunshi seibutsugaku  
Dai-2-han" [Watson's Molecular biology of  
recombinant DNA], pp. 227-243 (Maruzen Co.,  
Ltd., 1993)

Document 1 discloses DNA coding human haematopoietic  
prostaglandin D<sub>2</sub> and also discloses the contribution of  
said enzyme to the differentiation and maturation of mast  
cells. Documents 2-4 disclose the contribution of  
prostaglandin D<sub>2</sub> to the differentiation of fat cells, its  
action as a mediator of allergic reactions and effects

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/JP 00/06963

such as sleep induction, and Document 3, page 11, right column, states that, "Progress has been made in breeding knockout mice lacking genes for each of the two forms of PGD synthase - lipocalin and haematopoietic. A start has also been made on breeding transgenic mice showing the opposite - over-expression of these genes." Therefore, as disclosed in Document 5, a person skilled in the art could easily deduce the use of a known technique for breeding transgenic mice described in Documents 5, 6 and 7 to create transgenic mice carrying DNA disclosed in Document 1 in order to investigate the functions of the aforementioned enzymes responsible for synthesis of a substance having the functions disclosed in Documents 1 and 2.

Moreover, since tests of the activity of antiallergy drug candidates, sleep regulating substances and substances for regulating obesity and mast cell differentiation in individuals in effect test substances associated with functions of prostaglandin  $D_2$  disclosed in Documents 1-4, performing these tests with transgenic mice bearing DNA disclosed in Document 1 is obvious to a person skilled in the art.

The other documents cited in the international search report also disclose functions of prostaglandin  $D_2$  and prostaglandin  $E_2$  synthase. It should also be noted that although the enzyme prostaglandin  $D_2$  synthase exists in haematopoietic and lipocalin forms with completely different structures, the substance synthesized by the two enzymes is the same

## 国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)  
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 00- の書類記号 F-050PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/06963	国際出願日 (日.月.年) 05.10.00	優先日 (日.月.年) 05.10.99
出願人(氏名又は名称) 科学技術振興事業団		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

## 1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 \_\_\_\_\_ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>7</sup> A01K67/027, A61K45/00, A61P3/04, A61P25/20,  
A61P37/08, A61P43/00, C12N15/52, G01N33/15,  
G01N33/50

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>7</sup> A01K67/027, A61K45/00, A61P3/04, A61P25/20,  
A61P37/08, A61P43/00, C12N15/52, G01N33/15,  
G01N33/50

## 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年  
日本国公開実用新案公報 1971-2000年  
日本国登録実用新案公報 1994-2000年  
日本国実用新案登録公報 1996-2000年

## 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

DIALOG (BIOSIS)  
JOIS (JICSTファイル)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P、Y	J P, 11-332417, A (科学技術振興事業団) 07. 12月. 1999 (07. 12. 99) 全文、第1-9図 (ファミリー無し)	1-5
Y	J P, 9-322773, A (財団法人大阪バイオサイエンス研 究所) 16. 12月. 1997 (16. 12. 97) 全文、第1-11図 (ファミリー無し)	1-5
A	Cell, Vol. 90, No. 6, 1085-1095, (1997)	1-5

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26. 12. 00

国際調査報告の発送日

16.01.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)  
郵便番号 100-8915  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)  
坂田 誠

2B

2914

電話番号 03-3581-1101 内線 3235

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	Cell, Vol. 83, No. 5, 803-812, (1995)	1, 2, 5
Y	Cell, Vol. 83, No. 5, 813-819, (1995)	1, 2, 5
P, X P, Y	Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 97, No. 9, 4903-4907, (25. 04. 00)	1, 2, 4 3, 5
Y	細胞工学, Vol. 17, No. 5, 707-713, (1998)	1-5
Y	新薬と臨床, Vol. 45, No. 9, 1647-1650, (1996)	1-3
Y	蛋白質 核酸 酵素, Vol. 45, No. 6, 1072-1076, (2000)	1-3
Y	Isotope News, No. 522, 6-11, (1997)	1-5
Y	麻酔, Vol. 47, 増刊号, S11-S17, (1998)	1, 2, 4
Y	Medical Immunology, Vol. 15, No. 2, 217-220, (1988)	1-5
Y	蛋白質核酸酵素, Vol. 40, No. 14, 2001-2007, (1995)	1-5
P, X P, Y	バイオサイエンスとインダストリー, Vol. 58, No. 9, 643-644, (01. 09. 00)	1, 2, 4 3, 5
X Y	日本臨床, Vol. 56, No. 2, 488-492, (1998)	1, 2, 4 3, 5



P C T

13 JAN 2002

5<sup>T</sup>

## 国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 00-F-050PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/06963	国際出願日 (日.月.年) 05.10.00	優先日 (日.月.年) 05.10.99
国際特許分類 (IPC) Int.Cl <sup>1</sup> A01K67/027, A61K45/00, A61P3/04, A61P25/20, A61P37/08, A61P43/00, G01N33/15, G01N33/50, C12N15/52		
出願人 (氏名又は名称) 科学技術振興事業団		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。  
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)  
この附属書類は、全部で                      ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 13.04.01	国際予備審査報告を作成した日 27.12.01	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 坂田 誠 印	2B 2914
電話番号 03-3581-1101 内線 3237		

## 1. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に  
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- |                                     |   |       |        |                      |
|-------------------------------------|---|-------|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書        | 第 | _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの          |
| 明細書                                 | 第 | _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| 明細書                                 | 第 | _____ | ページ、   | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲      | 第 | _____ | 項、     | 出願時に提出されたもの          |
| 請求の範囲                               | 第 | _____ | 項、     | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
| 請求の範囲                               | 第 | _____ | 項、     | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| 請求の範囲                               | 第 | _____ | 項、     | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面         | 第 | _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの          |
| 図面                                  | 第 | _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| 図面                                  | 第 | _____ | ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 | _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの          |
| 明細書の配列表の部分                          | 第 | _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| 明細書の配列表の部分                          | 第 | _____ | ページ、   | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(a)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)

## V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	1 - 5	有
	請求の範囲		無
進歩性 (IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1 - 5	無
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1 - 5	有
	請求の範囲		無

## 2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

請求の範囲1～5について：

文献1：JP、9-322773、A (財団法人大阪バイオサイエンス研究所) 1  
6. 12月. 1997 (16. 12. 97)

全文、第1-11図 (ファミリー無し)

文献2：細胞工学, Vol. 17, No. 5, 707-713, (1998)

文献3：Isotope News, No. 522, 6-11, (1997)

文献4：日本臨床, Vol. 56, No. 2, 488-492, (1998)

文献5：Medical Immunology, Vol. 15, No. 2, 217-220, (1988)

文献6：蛋白質核酸酵素, Vol. 40, No. 14, 2001-2007, (1995)

文献7：「ワトソン・組み換えDNAの分子生物学 第2版」 227-243

(丸善株式会社、1993)

文献1には、ヒト造血器型プロスタグランジンD<sub>2</sub>合成酵素をコードするDNAが記載されていると共に該酵素が肥満細胞の分化や成熟に関与することが記載されている。また、文献2～4には、プロスタグランジンD<sub>2</sub>が脂肪細胞の分化に関与すること、アレルギー反応のメディエーターとして作用すること、及び、睡眠誘発等の作用を示すことが記載されており、文献3には、11頁右欄に「リボカイン型および造血器型の2種類のPGD合成酵素のそれぞれの遺伝子を欠損させたノックアウトマウスの作製を進めている。同時にこれとは反対に、これらの遺伝子を大量に発現するトランスジェニックマウスの作製も開始した。」との記載がある。よって、文献2～4に記載されている機能を持つ物質を合成する前記酵素の機能を調べるために、文献5、6及び7に記載されているような周知技術であるところのトランスジェニックマウス作製方法を用いて、文献1に記載されているDNAを導入したトランスジェニックマウスを作製することは、文献5に記載されているように当業者が容易に想到し得ることである。

また、抗アレルギー薬候補物質、睡眠調節物質、肥満及び肥満細胞分化調節物質の個体内活性の試験は、文献1乃至4に記載されたプロスタグランジンD<sub>2</sub>の機能に関連する物質の試験であるので、文献1に記載されたDNAを導入したトランスジェニックマウスをこれらの試験に用いることは、当業者が当然なし得ることである。

なお、国際調査報告で列記した他の文献は、プロスタグランジンD<sub>2</sub>及びプロスタグランジンD<sub>2</sub>合成酵素の機能について記載された文献である。また、プロスタグランジンD<sub>2</sub>合成酵素には、造血器型とリボカリン型という全く構造の異なる酵素が存在するが、両酵素が合成する物質は同じである。

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001 年 4 月 12 日 (12.04.2001)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/24627 A1

(51) 国際特許分類:  
A61K 45/00, A61P 3/04, 25/20, 37/08, 43/00, C12N  
15/52, G01N 33/15, 33/50

(21) 国際出願番号: PCT/JP00/06963

(22) 国際出願日: 2000 年 10 月 5 日 (05.10.2000)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願平 11/284610 1999 年 10 月 5 日 (05.10.1999) JP  
特願 2000/166726 2000 年 6 月 2 日 (02.06.2000) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 科学技術  
振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY  
CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県川口市本  
町 4 丁目 1 番 8 号 Saitama (JP). 財団法人 大阪バイオサイ  
エンス研究所 (OSAKA BAIOSCIENCE INSTITUTE)  
[JP/JP]; 〒565-0874 大阪府吹田市古江台 6 丁目 2 番 4 号  
Osaka (JP). オリエンタル酵母工業株式会社 (ORIENTAL  
YEAST CO., LTD) [JP/JP]; 〒174-8508 東京都板  
橋区小豆沢 3 丁目 6 番 10 号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 高田良博  
(URADE, Yoshihiro) [JP/JP]; 〒604-0000 京都府京都市  
中京区西洞院通堀原町下ル 古西町 440 藤和シテ  
イーコープ 706 号 Kyoto (JP). 藤谷靖恵 (FUJITANI,  
Yasushi) [JP/JP]; 〒592-0896 大阪府堺市浜寺昭和町  
5 丁目 607 番 1 号 Osaka (JP). 北山博章 (KITAYAMA,  
Hirosaki) [JP/JP]; 〒610-1103 京都府京都市西京区御  
陵崎ヶ堂町 3 丁目 5 番地の 12 Kyoto (JP). 林 直木  
(HAYASHI, Naoki) [JP/JP]; 〒245-0018 神奈川県横浜  
市東区上飯田町 2838-4 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 弁理士 西澤利夫 (NISHIZAWA, Toshio); 〒  
150-0042 東京都渋谷区宇田川町 37-10 麻仁ビル 6 階  
Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): CA, JP, US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE,  
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

添付公開書類:  
一 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される  
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語  
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: ANIMAL WITH THE MASS EXPRESSION OF HUMAN GENE AND TEST METHOD BY USING THE ANIMAL

(54) 発明の名称: ヒト遺伝子大量発現動物とこの動物を用いた試験方法

(57) Abstract: An animal with the mass expression of a human gene which is a non-human animal obtained through the ontogenesis of a totipotent cell of a non-human animal having a human hematopoietic prostaglandin D<sub>2</sub> synthase gene transferred therein or its offspring, characterized by carrying the above-described gene in its somatic cell chromosome and expressing human prostaglandin D<sub>2</sub> synthase on a mass scale; and a method of testing the activities in individuals of candidates for anti-allergic drugs, sleep-controlling drugs and candidates for antiobestics by using the above animal.

(57) 要約:

この出願は、ヒト造血器型プロスタグランジン D<sub>2</sub> 合成酵素遺伝子を導入した非ヒト動物の全能性細胞を個体発生して得られる非ヒト動物およびその子孫動物であって、体細胞染色体中に上記遺伝子を保有し、ヒト・プロスタグランジン D<sub>2</sub> 合成酵素を大量発現することを特徴とするヒト遺伝子大量発現動物と、この動物を用いて抗アレルギー薬候補物質、睡眠調節物質および抗肥満薬候補物質の個体内活性を試験する方法を提供する。

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06963

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> A01K67/027, A61K45/00, A61P3/04, A61P25/20,  
A61P37/08, A61P43/00, C12N15/52, G01N33/15,  
G01N33/50

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A01K67/027, A61K45/00, A61P3/04, A61P25/20,  
A61P37/08, A61P43/00, C12N15/52, G01N33/15,  
G01N33/50

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2000  
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2000 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2000

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

DIALOG (BIOSIS)  
JOIS (JICST FILE)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, Y	JP, 11-332417, A (Japan Science and Technology Corp.), 07 December, 1999 (07.12.99), Full text; Figs. 1 to 9 (Family: none)	1-5
Y	JP, 9-322773, A (Osaka Bio Science Kenkyusho), 16 December, 1997 (16.12.97), Full text; Figs. 1 to 11 (Family: none)	1-5
A	Cell, Vol.90, No.6, 1085-1095, (1997)	1-5
Y	Cell, Vol.83, No.5, 803-812, (1995)	1, 2, 5
Y	Cell, Vol.83, No.5, 813-819, (1995)	1, 2, 5
P, X P, Y	Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol.97, No.9, 4903-4907, (25.04.00)	1, 2, 4 3, 5
Y	Saibou Kougaku, Vol.17, No.5, 707-713, (1998)	1-5
Y	Shinyaku to Rinshou, Vol.45, No.9, 1647-1650, (1996)	1-3
Y	Tanpakushitsu, Kakusan, Kouso, Vol.45, No.6, 1072-1076,	1-3

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* "A" Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" Later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"Z" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
26 December, 2000 (26.12.00)

Date of mailing of the international search report  
16 January, 2001 (16.01.01)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06963

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	(2000)	
Y	Isotope News, No.522, 6-11, (1997)	1-5
Y	Masui, Vol.47, special issue, S11-S17, (1998)	1,2,4
Y	Medical Immunology, Vol.15, No.2, 217-220, (1988)	1-5
Y	Tanpakushitsu Kakusan Kousho, Vol.40, No.14, 2001-2007, (1995)	1-5
P,X P,Y	Bio Science to Industry, Vol.58, No.9, 643-644, (01.09.00)	1,2,4 3,5
X Y	Nippon Rinshou, Vol.56, No.2, 488-492, (1998)	1,2,4 3,5

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001 年 4 月 12 日 (12.04.2001)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/24627 A1

- (51) 国際特許分類: A01K 67/027, (72) 発明者; および  
A61K 45/00, A61P 3/04, 25/20, 37/08, 43/00, C12N (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 裏出良博  
15/52, G01N 33/15, 33/50 (URADE, Yoshihiro) [JP/JP]; 〒604-0000 京都府京都市中京区西洞院通蛸薬師下ル 古西町440 藤和シテイコープ706号 Kyoto (JP). 藤谷靖志 (FUJITANI, Yasushi) [JP/JP]; 〒592-0898 大阪府堺市浜寺昭和町5丁目607番1号 Osaka (JP). 北山博章 (KITAYAMA, Hiroaki) [JP/JP]; 〒610-1103 京都府京都市西京区御陵峰ヶ堂町3丁目5番地の12 Kyoto (JP). 林 直木 (HAYASHI, Naoki) [JP/JP]; 〒245-0018 神奈川県横浜市区上飯田町2838-4 Kanagawa (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/06963
- (22) 国際出願日: 2000 年 10 月 5 日 (05.10.2000)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願平11/284610 1999 年 10 月 5 日 (05.10.1999) JP  
特願2000/166726 2000 年 6 月 2 日 (02.06.2000) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 科学技術振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県川口市本町4丁目1番8号 Saitama (JP). 財団法人大阪バイオサイエンス研究所 (OSAKA BAIOSCIENCE INSTITUTE) [JP/JP]; 〒565-0874 大阪府吹田市古江台6丁目2番4号 Osaka (JP). オリエンタル酵母工業株式会社 (ORIENTAL YEAST CO., LTD) [JP/JP]; 〒174-8508 東京都板橋区小豆沢3丁目6番10号 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 弁理士 西澤利夫 (NISHIZAWA, Toshio); 〒150-0042 東京都渋谷区宇田川町37-10 麻仁ビル6階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): CA, JP, US.
- (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: ANIMAL WITH THE MASS EXPRESSION OF HUMAN GENE AND TEST METHOD BY USING THE ANIMAL

(54) 発明の名称: ヒト遺伝子大量発現動物とこの動物を用いた試験方法

(57) Abstract: An animal with the mass expression of a human gene which is a non-human animal obtained through the ontogenesis of a totipotent cell of a non-human animal having a human hematopoietic prostaglandin D<sub>2</sub> synthase gene transferred therein or its offspring, characterized by carrying the above-described gene in its somatic cell chromosome and expressing human prostaglandin D<sub>2</sub> synthase on a mass scale; and a method of testing the activities in individuals of candidates for anti-allergic drugs, sleep-controlling drugs and candidates for antiobestics by using the above animal.

(57) 要約:

この出願は、ヒト造血器型プロスタグランジン D<sub>2</sub> 合成酵素遺伝子を導入した非ヒト動物の全能性細胞を個体発生して得られる非ヒト動物およびその子孫動物であって、体細胞染色体中に上記遺伝子を保有し、ヒト・プロスタグランジン D<sub>2</sub> 合成酵素を大量発現することを特徴とするヒト遺伝子大量発現動物と、この動物を用いて抗アレルギー薬候補物質、睡眠調節物質および抗肥満薬候補物質の個体内活性を試験する方法を提供する。

WO 01/24627 A1

## 請求の範囲

1. ヒト造血器型プロスタグランジン D<sub>2</sub>合成酵素遺伝子を導入した非ヒト動物の全能性細胞を個体発生して得られる非ヒト動物およびその子孫動物であって、体細胞
- 5 染色体中に上記遺伝子を保有し、ヒト・プロスタグランジン D<sub>2</sub>合成酵素を大量発現することを特徴とするヒト遺伝子大量発現動物。
2. 非ヒト動物がマウスである請求項 1 のヒト遺伝子大量発現動物。
- 10 3. 抗アレルギー薬候補物質の個体内活性を試験する方法であって、請求項 1 または 2 のヒト遺伝子大量発現動物に候補物質を投与し、この動物のアレルギー反応を測定することによって、候補物質の活性を評価することを特徴とする方法。
4. 睡眠調節物質の個体内活性を試験する方法であって、請求項 1 または 2 のヒ
- 15 ト遺伝子大量発現動物に候補物質を投与し、この動物の睡眠状態を測定することによって、候補物質の活性を評価することを特徴とする方法。
5. 肥満および脂肪細胞分化調節物質の個体内活性を試験する方法であって、請求項 1 または 2 のヒト遺伝子大量発現動物に候補物質を投与し、この動物の肥満状
- 20 態を測定することによって、候補物質の活性を評価することを特徴とする方法。



## 明細書

## ヒト遺伝子大量発現動物とこの動物を用いた試験方法

## 5 技術分野

この出願の発明は、ヒト遺伝子大量発現動物と、この動物を用いた各種試験方法に関するものである。さらに詳しくは、この出願の発明は、アレルギー発症、睡眠誘発の原因物質の一つであるプロスタグランジン  $D_2$  ( $PGD_2$ ) の合成酵素であるヒト PGD 合成酵素 (H-PGDS) をコードする遺伝子を体細胞染色体中に保有し、この

10 酵素の大量発現によって  $PGD_2$  を大量に産生する非ヒト・トランスジェニック動物と、この動物を用いてアレルギー疾患、睡眠疾患、肥満等の生活習慣病等の予防または治療薬の有効成分を試験する方法に関するものである。

## 背景技術

15 H-PGDS (Biochem. Biophys. Acta 575:43-51, 1979; J. Biol. Chem. 262:3820-3825, 1987; Cell 90:1085-1095, 1997) は、各種の生理活性を有する体内物質プロスタグランジン  $D_2$  ( $PGD_2$ ; Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids 37:219-234, 1989, FASEB J.5:2575-2581, 1991; J. Lipid Mediat. Cell Signalling, 14:71-82, 1996) の産生機能を有する酵素であり、免疫担当細胞、生殖器官 (J. Immunol. 143:2982-2989,

20 1989; J. Biol. Chem. 270:3239-3246, 1995) に発現する。H-PGDS により肥満細胞から産生される  $PGD_2$  が炎症の増悪に関与することや、 $PGD_2$  の分解物質である 15d-PGJ<sub>2</sub> (15-deoxy- $\Delta$  12, 14 PGJ<sub>2</sub>) が脂肪細胞の分化因子であることが知られている (Cell, 83:803-812 および 813-819, 1995)。

25 H-PGDS は肥満細胞、抗原提示細胞に存在し (J. Immunol 143:2982-2989, 1989; J. Biol. Chem. 270:3239-3246, 1995)、アレルギー炎症反応における  $PGD_2$  の産生に関わっている。産生された  $PGD_2$  は気管収縮、血管拡張を引き起こしアレルギーの増悪に関わっていることが知られている。

また、PGD<sub>2</sub>は現在までに明らかにされている内因性睡眠誘発物質のうちで最も強い睡眠作用を示す。ヒトにおいてトリパノソーマ感染によるアフリカ睡眠病看者において、病状の進行に伴い脳脊髄液中の PGD<sub>2</sub>レベルが 100-1,000 倍上昇することが報告されている (Trans Royal Soc Trop Med Hyg 84:795-799, 1990)。さらに全身性肥満細胞増多症の患者に見られる病理的な深い眠りにおいても血液中の PGD<sub>2</sub>のレベルが 150 倍も上昇することが知られており (New Engl. J. Med. 303:1400-1404, 1980)、病的睡眠における PGD<sub>2</sub>の重要な役割が示唆されている。

10 以上のとおり、PGD<sub>2</sub>とこれを産生する H-PGDS が生物個体の様々な生理機能に密接に関係しており、ヒト疾患要因になることが示唆されている。しかしながら、H-PGDS の大量発現が動物個体に対してどの様に作用するのかについて、統制された条件下での研究を可能とするモデル動物系は確立されていない。

15 この出願の発明は以上のとおりの事情を鑑みてなされたものであって、遺伝的に H-PGDS 活性を大量に発現している非ヒト動物個体を提供することを課題としている。またこの出願は、この動物個体を用い、H-PGDS の大量発現によって生じる各種疾患の予防もしくは治療物質の有効性を試験する方法を提供することを課題ともしている。

20

#### 発明の開示

この出願は、以下の(1)から(5)の発明を提供する。

(1) ヒト造血器型プロスタグランジン D<sub>2</sub>合成酵素遺伝子を導入した非ヒト動物の全  
25 能性細胞を個体発生して得られる非ヒト動物およびその子孫動物であって、体細胞染色体中に上記遺伝子を保有し、ヒト・プロスタグランジン D<sub>2</sub>合成酵素を大量発現することを特徴とするヒト遺伝子大量発現動物。

(2) 非ヒト動物がマウスである前記(1)のヒト遺伝子大量発現動物。

(3) 抗アレルギー薬候補物質の個体内活性を試験する方法であって、前記(1)または(2)のヒト遺伝子大量発現動物に候補物質を投与し、この動物のアレルギー反応を測定することによって、候補物質の活性を評価することを特徴とする方法。

(4) 睡眠調節物質の個体内活性を試験する方法であって、前記(1)または(2)のヒト遺伝子大量発現動物に候補物質を投与し、この動物の睡眠状態を測定することによって、候補物質の活性を評価することを特徴とする方法。

10

(5) 肥満および脂肪細胞分化調節物質の個体内活性を試験する方法であって、前記(1)または(2)のヒト遺伝子大量発現動物に候補物質を投与し、この動物の肥満状態を測定することによって、候補物質の活性を評価することを特徴とする方法。

#### 15 図面の簡単な説明

図1は、この発明のトランスジェニックマウスの作製に用いた導入ベクターの構造を示す模式図である。

図2は、3系統のトランスジェニックならびに野性型マウスの各種臓器より抽出した mRNA の H-PGDS ノーザン解析の結果である。

20 図3は、トランスジェニックマウスの全身臓器から抽出した mRNA の H-PGDS ノーザン解析の結果である。

図4は、3系統のトランスジェニックならびに野性型マウスの各種臓器より抽出したタンパク質分画を用いた、H-PGDS 酵素活性の結果である。

25 図5は、抗原に免疫を施したトランスジェニックならびに野性型マウスに生理的食塩水もしくは抗原を暴露した後の肺胞洗浄液中の炎症性細胞の細胞数を計測した結果である。

図6は、トランスジェニックならびに野性型マウスにリポポリサッカロイド(20 mg/kg)を腹腔内投与し後に、12時間の自発的行動量を測定した結果である。

図7は、トランスジェニック (TG) ならびに野生型 (WT) マウスを高脂肪食で飼育し、体重変化を測定した結果 (A) と、両マウスを通常食および高脂肪食で飼育した場合の白色脂肪組織重量を測定した結果 (B) である。

5 発明を実施するための最良の形態

導入遺伝子であるヒト H-PGDS 遺伝子は、その cDNA を用いることができる。この H-PGDS cDNA は、公知のラット cDNA 配列 (Cell 90:1085-1095, 1997 ; GenBank Accession No. D82071) またはヒト cDNA 配列 (Eur. J. Biochem. 267:3315-3322, 2000 ; GenBank Accession No. NM\_014485) の任意部分の塩基配列に基づいてオリゴヌクレオチドを合成し、これをプローブとして用いてヒト cDNA ライブラリーをスクリーニングする方法や、目的とする cDNA 断片の両末端にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを合成し、これをプライマーとして用いてヒト細胞から単離した mRNA から RT-PCR 法により調製することもできる。

15 また、導入遺伝子には、その大量発現を制御するためのプロモーター配列やエンハンサー配列を連結する。プロモーター配列やエンハンサー配列は特に制限はなく、遺伝子導入動物の各種臓器において高度に発現する遺伝子のプロモーター領域やエンハンサー領域等を適宜に選択して用いることができる。

20 前記発明(1)のヒト遺伝子大量発現動物は、公知のトランスジェニック動物作製法 (例えば、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:7380-7384, 1980) に従って作製することができる。すなわち、前記導入遺伝子を非ヒト動物の全能性細胞に導入し、この細胞を個体へと発生させ、体細胞のゲノム中に導入遺伝子が組み込まれた個体を選別することによって目的とするトランスジェニック動物を作製することができる。非  
25 ヒト動物としては、技術的には全ての動物種を対象とすることが可能であるが、特に近交系が多数作出されており、しかも受精卵の培養、体外受精等の技術が整っているマウスが最適である。遺伝子を導入する全能性細胞としては、マウスの場合、受精卵や初期胚を用いることができる。また培養細胞への遺伝子導入法としては、

トランスジェニック動物個体の産出高率や次代への導入遺伝子の伝達効率を考慮した場合、DNAの物理的注入（マイクロインジェクション）法が最適である。

遺伝子を注入した受精卵は、次に仮親の卵管に移植され、個体まで発生し出生した動物を里親につけて飼育させたのち、体の一部（尾部先端）からDNAを抽出し、サザン解析やPCR法により導入遺伝子の存在を確認する。導入遺伝子の存在が確認された個体を初代（Founder）とすれば、導入遺伝子はその子孫の50%に伝達され、野性型または変異型の動物を効率よく作出することが可能である。

10      このようにして作出されたトランスジェニック動物はH-PGDSを過剰産生するため、そのPGD<sub>2</sub>の生理作用を検討する最適のモデルとなりうる。

この出願の前記(3)の発明は、前記発明(1)のヒト遺伝子大量発現動物に抗アレルギー薬候補物質を投与し、この動物のアレルギー反応を測定することによって、候補物質の個体内活性を試験する方法である。すなわち、前記発明(1)のトランスジェニック動物は、H-PGDSを大量に保有することによってPGD<sub>2</sub>を大量に産生するため、各種のアレルゲンに対して敏感に反応する。従って、例えば、任意のアレルゲンを事前に投与し、次いで、抗アレルギー薬の候補物質を投与して、動物の全身アレルギー反応を測定することによって、候補物質の薬効を評価することができる。

20

この出願の前記(4)の発明は、前記発明(1)のヒト遺伝子大量発現動物に睡眠調節のための候補物質を投与し、この動物の睡眠状態を測定することによって、候補物質の個体内活性を試験する方法である。すなわち、前記発明(1)のトランスジェニック動物は、H-PGDSを大量に保有することによってPGD<sub>2</sub>を大量に産生するため、その強い睡眠作用により睡眠調節に変調をきたしている。従って、例えば、睡眠調節のための候補物質（例えば、覚醒状態を持続させる物質等）を投与して、動物の覚醒・睡眠状態を測定することによって、候補物質の薬効を評価することができる。覚醒・睡眠状態の測定は、活動量や摂食・節水量を計測したり、あるいは脳波や筋

25

電位等の生理的指標を計測することによって行うことができる。

この出願の前記(5)の発明は、前記発明(1)のヒト遺伝子大量発現動物に抗肥満薬候補物質を投与し、この動物の肥満の程度（体重、脂肪組織重量など）を測定することによって、候補物質の個体内活性を試験する方法である。すなわち、前記発明(1)のトランスジェニック動物は、H-PGDS を大量に保有することによって PGD<sub>2</sub> を大量に産生するため、体重増加や脂肪組織重量の増加に關与する 15d-PGJ<sub>2</sub> も大量に産生され、肥満状態を呈する。従って、例えば、抗肥満薬候補物質を投与して、動物の肥満の程度を測定することによって、候補物質の薬効を評価することができる。

10

#### 実施例

以下、実施例を示してこの出願の発明についてさらに詳細かつ具体的に説明するが、この出願の発明は以下の例によって限定されるものではない。

15 

#### 実施例 1

##### (1) トランスジェニックマウスの作製

ヒト細胞の mRNA から調製した cDNA ライブラリーから、ラット H-PGDS 遺伝子の cDNA をプローブとしてヒト H-PGDS の cDNA をクローニングした。

次にベクター（pCAGGS）のクローニング部位（*Sal* I / *Not* I）にヒト H-PGDS の cDNA を挿入結合し、導入ベクターを構築した。図 1 は、この導入ベクターにおける導入遺伝子の構成である。この導入遺伝子は、図 1 にも示したように、CMV エンハンサーとチキン  $\beta$ -アクチンプロモーターを H-PGDS cDNA の上流に有しており、マウスの染色体に導入されると、これらのエンハンサーおよびプロモーターの作用によって H-PGDS mRNA を大量に発現させる。

25 この導入ベクターをマイクロインジェクション法によって FVB マウスの受精卵に注入した。遺伝子導入受精卵は定法に従って仮親の卵管に移植し、個体へと発生させ出生させた。

得られたマウス個体の尾部から DNA を抽出し、導入遺伝子の配列にもとづき合成

されたブローブを用い、サザン解析法によりトランスジェニックマウスを選別した。  
H-PGDS 遺伝子の発現量の異なる独立した3系統のトランスジェニックマウスを確  
立した。結果は図2に示したとおりである。

5 (2) トランスジェニックマウスの遺伝子発現の検討

トランスジェニックマウスの全身における導入遺伝子の発現をノーザン解析法に  
より調べた。その結果 S55 マウスにおいて、H-PGDS 遺伝子は骨格筋、心臓、肺、  
大腸、肝臓に高レベルで発現していることが確認された。結果は図3に示したと  
おりである。

10

(3) トランスジェニックマウスの PGD 酵素活性の検討

トランスジェニックマウスの各種臓器における PGD 酵素活性を、基質である  
PGH<sub>2</sub>を用いて調べた。各種臓器においてトランスジェニックマウスでは酵素活性に  
著しい増加がみられた。また3系統間で比較したところ、S55>S41>S66 の順で

15 酵素活性の増加が観察された。結果は図4に示したとおりである。

実施例2

実施例1で得たトランスジェニックマウスを用い、ヒト喘息のモデルである抗原  
誘発肺炎症モデルにおいて解析を行った。

20 トランスジェニックマウスでは抗原チャレンジ後の好酸球の肺への浸潤が、野性  
型に比べ有意に増加していることが観察された。結果は図5に示したとおりである。

以上の結果から、この発明のトランスジェニックマウスはアレルギー発症の機構  
を解明するためのモデル動物として有用であり、新規抗アレルギー物質をスクリー  
ニングする系として有効であることが確認された。

25

実施例3

実施例1で得たトランスジェニックマウスにリポポリサッカロイドを腹腔内投与  
し、炎症時の睡眠発作における解析を行った。

高濃度 (20 mg/kg) のリボポリサッカロイドを投与後、トランスジェニックマウスの自発的行動量を観察したところ、野性型に比べ有意に低下していた。このことはトランスジェニックマウスにおいては睡眠時間が増加していることを示唆するものである。結果は図6に示したとおりである。

- 5     以上の結果から、この発明のトランスジェニックマウスは睡眠誘発の機構を解明するためのモデル動物としても、また睡眠・覚醒リズムの新規調節物質をスクリーニングする系としても有効であることが確認された。

#### 実施例 4

- 10    実施例1で得たトランスジェニックマウスに対して高脂肪食負荷を行い、肥満の進行を解析した。

高脂肪食負荷6週間の体重増加を観察したところ、野生型マウスに比べ、トランスジェニックマウスでは体重が有意に増加した。さらに、トランスジェニックマウスでは白色脂肪組織重量も有意に増加していた。結果は図7に示したとおりである。

15

#### 産業上の利用可能性

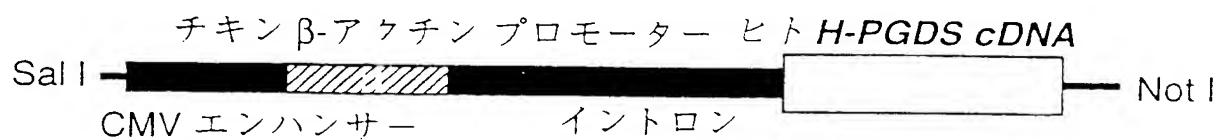
以上詳しく説明したとおり、この発明によって、H-PGDS を大量発現することによってヒト PGD<sub>2</sub>を大量に産生するトランスジェニック動物が提供される。この動物によって、ヒト各種疾患の治療薬剤等の開発が促進される。

20



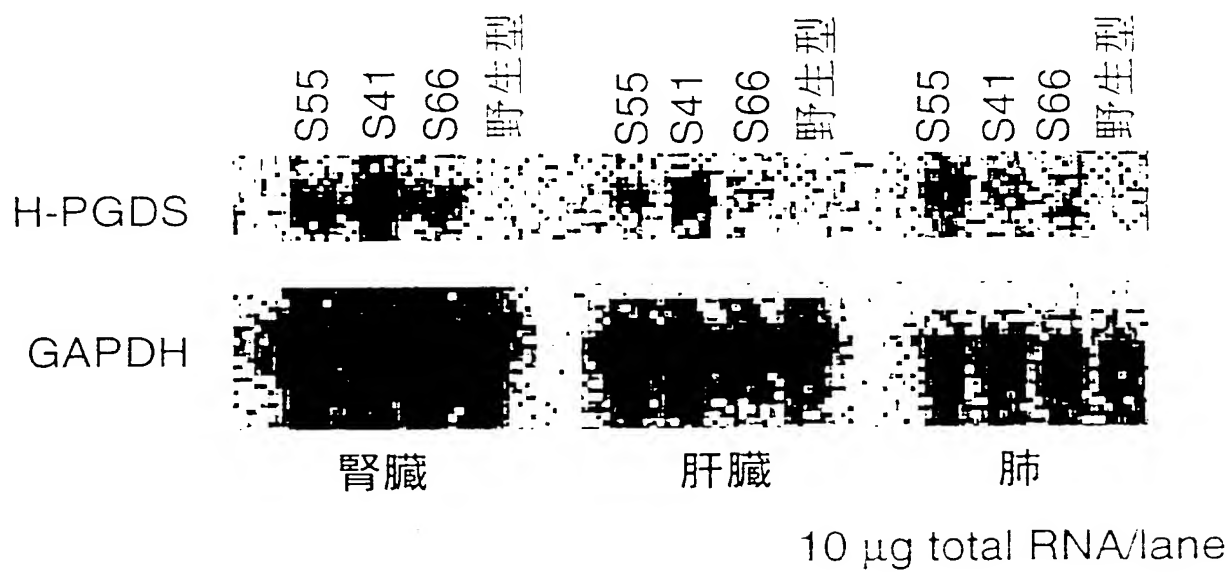
1/7

図 1



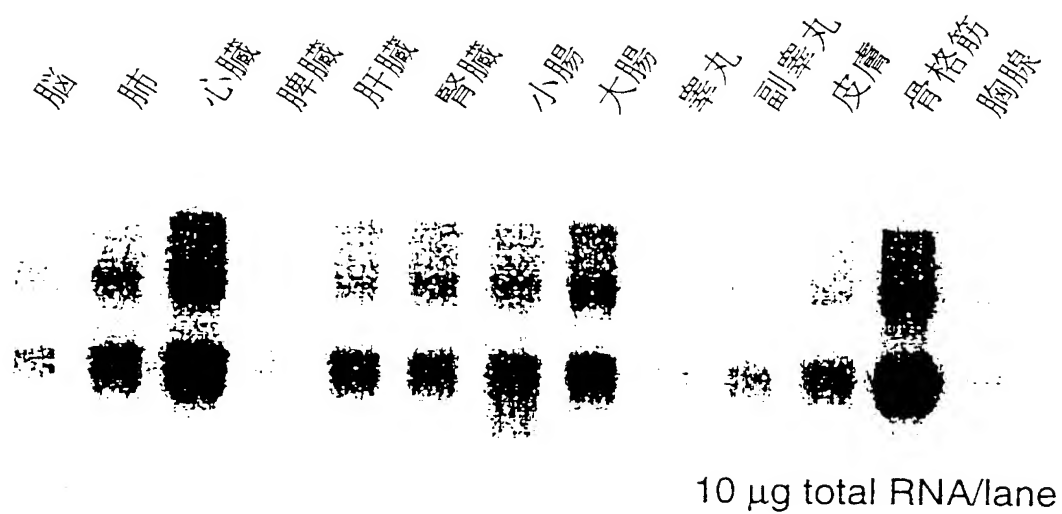
2/7

図 2



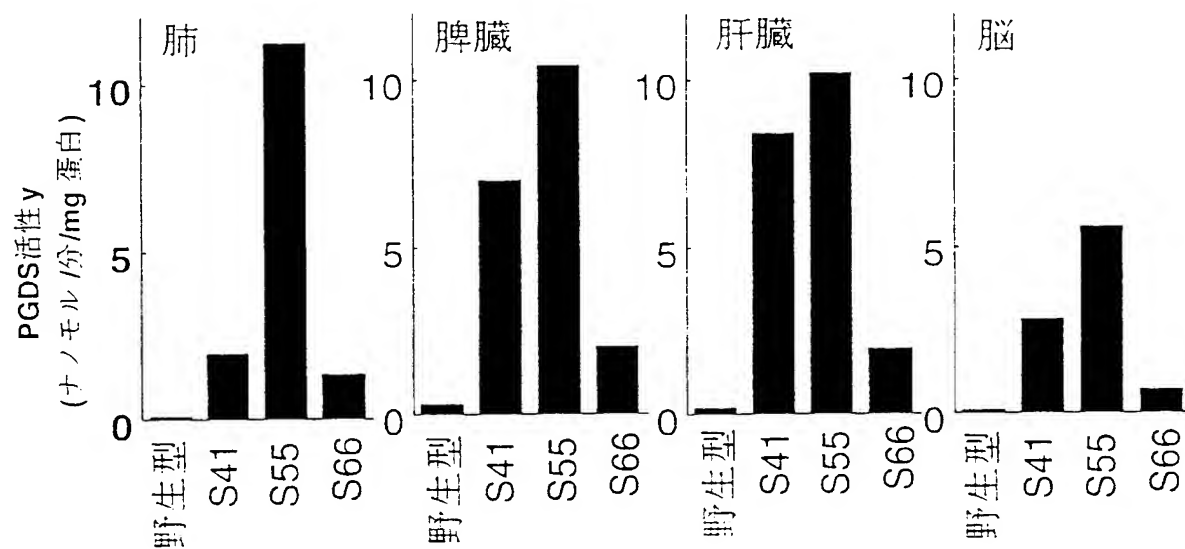
3/7

図 3



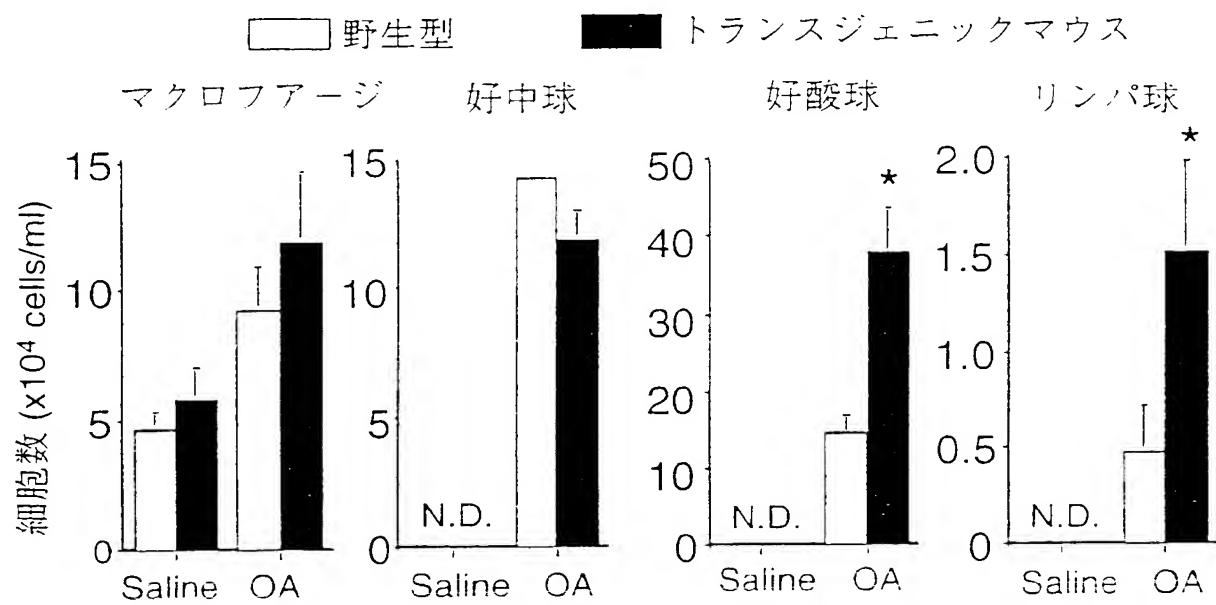
4/7

図 4



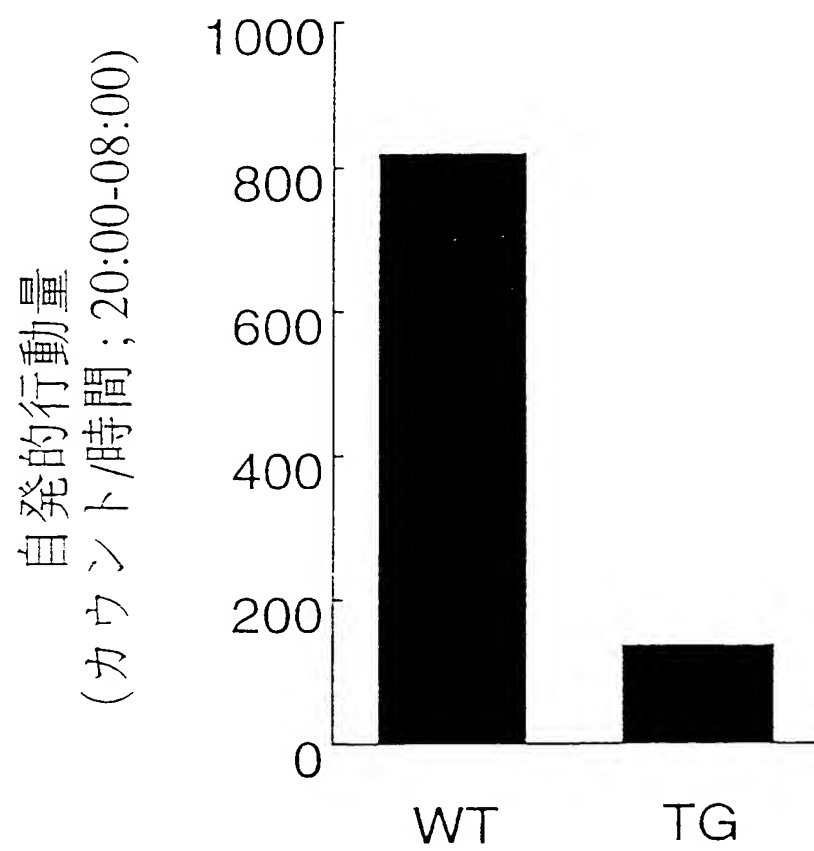
5/7

図5



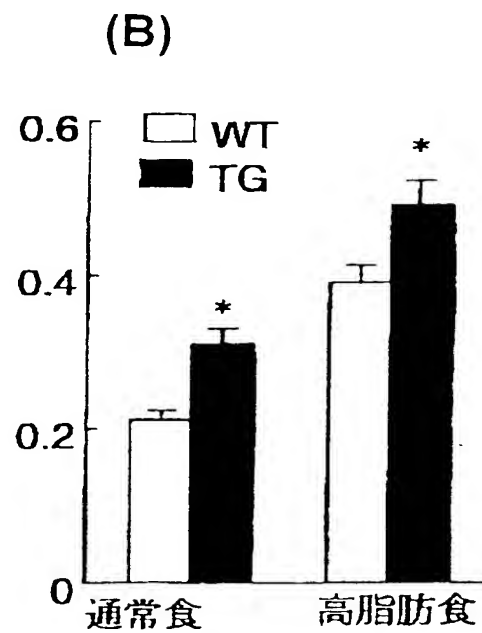
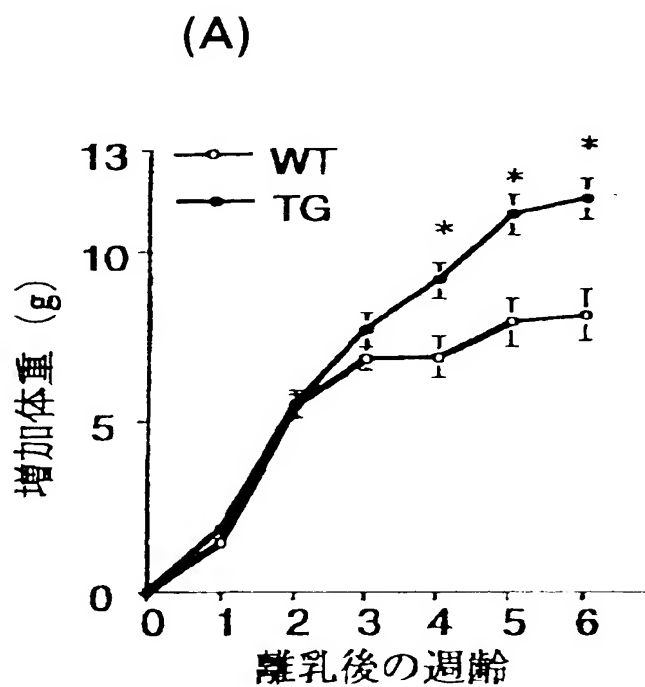
6/7

図 6



7/7

図 7



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

JP00/06963

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> A01K67/027, A61K45/00, A61P3/04, A61P25/20,  
A61P37/08, A61P43/00, C12N15/52, G01N33/15,  
G01N33/50

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> A01K67/027, A61K45/00, A61P3/04, A61P25/20,  
A61P37/08, A61P43/00, C12N15/52, G01N33/15,  
G01N33/50

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2000  
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2000 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2000

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

DIALOG (BIOSIS)  
JOIS (JICST FILE)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, Y	JP, 11-332417, A (Japan Science and Technology Corp.), 07 December, 1999 (07.12.99), Full text; Figs. 1 to 9 (Family: none)	1-5
Y	JP, 9-322773, A (Osaka Bio Science Kenkyusho), 16 December, 1997 (16.12.97), Full text; Figs. 1 to 11 (Family: none)	1-5
A	Cell, Vol.90, No.6, 1085-1095, (1997)	1-5
Y	Cell, Vol.83, No.5, 803-812, (1995)	1, 2, 5
Y	Cell, Vol.83, No.5, 813-819, (1995)	1, 2, 5
P, X P, Y	Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol.97, No.9, 4903-4907, (25.04.00)	1, 2, 4 3, 5
Y	Saibou Kougaku, Vol.17, No.5, 707-713, (1998)	1-5
Y	Shinyaku to Rinshou, Vol.45, No.9, 1647-1650, (1996)	1-3
Y	Tanpakushitsu, Kakusan, Kouso, Vol.45, No.6, 1072-1076,	1-3

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 26 December, 2000 (26.12.00) Date of mailing of the international search report 16 January, 2001 (16.01.01)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	Cell, Vol. 83, No. 5, 803-812, (1995)	1, 2, 5
Y	Cell, Vol. 83, No. 5, 813-819, (1995)	1, 2, 5
P, X P, Y	Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 97, No. 9, 4903-4907, (25. 04. 00)	1, 2, 4 3, 5
Y	細胞工学, Vol. 17, No. 5, 707-713, (1998)	1-5
Y	新薬と臨床, Vol. 45, No. 9, 1647-1650, (1996)	1-3
Y	蛋白質 核酸 酵素, Vol. 45, No. 6, 1072-1076, (2000)	1-3
Y	Isotope News, No. 522, 6-11, (1997)	1-5
Y	麻酔, Vol. 47, 増刊号, S11-S17, (1998)	1, 2, 4
Y	Medical Immunology, Vol. 15, No. 2, 217-220, (1988)	1-5
Y	蛋白質核酸酵素, Vol. 40, No. 14, 2001-2007, (1995)	1-5
P, X P, Y	バイオサイエンスとインダストリー, Vol. 58, No. 9, 643-644, (01. 09. 00)	1, 2, 4 3, 5
X Y	日本臨床, Vol. 56, No. 2, 488-492, (1998)	1, 2, 4 3, 5

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>1</sup> A 01 K 67/027, A 61 K 45/00, A 61 P 3/04, A 61 P 25/20,  
A 61 P 37/08, A 61 P 43/00, C 12 N 15/52, G 01 N 33/15,  
G 01 N 33/50

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>1</sup> A 01 K 67/027, A 61 K 45/00, A 61 P 3/04, A 61 P 25/20,  
A 61 P 37/08, A 61 P 43/00, C 12 N 15/52, G 01 N 33/15,  
G 01 N 33/50

## 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年  
日本国公開実用新案公報 1971-2000年  
日本国登録実用新案公報 1994-2000年  
日本国実用新案登録公報 1996-2000年

## 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

DIALOG (BIOSIS)  
JOIS (JICSTファイル)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P、Y	J P, 11-332417, A (科学技術振興事業団) 07. 12月. 1999 (07. 12. 99) 全文、第1-9図 (ファミリー無し)	1-5
Y	J P, 9-322773, A (財団法人大阪バイオサイエンス研 究所) 16. 12月. 1997 (16. 12. 97) 全文、第1-11図 (ファミリー無し)	1-5
A	Cell, Vol. 90, No. 6, 1085-1095, (1997)	1-5

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26. 12. 00

国際調査報告の発送日

16.01.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

坂田 誠

2 B

2914

電話番号 03-3581-1101 内線 3235

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06963

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	(2000)	
Y	Isotope News, No.522, 6-11, (1997)	1-5
Y	Masui, Vol.47, special issue, S11-S17, (1998)	1,2,4
Y	Medical Immunology, Vol.15, No.2, 217-220, (1988)	1-5
Y	Tanpakushitsu Kakusan Kousho, Vol.40, No.14, 2001-2007, (1995)	1-5
P,X P,Y	Bio Science to Industry, Vol.58, No.9, 643-644, (01.09.00)	1,2,4 3,5
X Y	Nippon Rinsho, Vol.56, No.2, 488-492, (1998)	1,2,4 3,5